

Title	Anti-Hexokinase 1 Antibody as a Novel Serum Biomarker of a Subgroup of Diabetic Macular Edema(Abstract_要旨)
Author(s)	Yoshitake, Tatsuya
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2020-03-23
URL	https://doi.org/10.14989/doctor.k22320
Right	
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	ETD

京都大学	博士（医学）	氏名	吉武達哉
論文題目	Anti-Hexokinase 1 Antibody as a Novel Serum Biomarker of a Subgroup of Diabetic Macular Edema (糖尿病黄斑浮腫の一部症例における新規血清バイオマーカーとしての抗ヘキソキナーゼ 1 抗体)		
(論文内容の要旨)			
<p>糖尿病網膜症(diabetic retinopathy; DR)は失明原因の上位を占めており、中でも増殖糖尿病網膜症(proliferative diabetic retinopathy; PDR)と糖尿病黄斑浮腫(diabetic macular edema; DME)は重篤な視力障害を来し、視力を脅かす糖尿病網膜症(vision-threatening DR)と呼ばれている。DME では網膜血管と網膜色素上皮からなる血液網膜柵(blood retinal barrier; BRB)が破綻し網膜浮腫を起こし、形態変化と共に機能障害を来し難治性の視機能低下を起こすがそのメカニズムは十分にはわかっていない。本来網膜は BRB によって免疫から隔絶されているが、DME ではその破綻によって神経網膜が自己免疫に曝され得るため免疫反応が病態へ関与している可能性がある。本研究では DME 患者の血清における網膜に対する自己抗体の同定及びその定量的評価を行った。</p> <p>まずブタ網膜溶解液を用いたウェスタンブロットにて糖尿病患者血清中の抗網膜抗体のスクリーニングを行い、DME 患者の血清中にブタ網膜タンパクに反応する自己抗体が存在することを確認した。DME 血清サンプルのうち 10 例中 7 例で約 102kDa の抗原との反応が見られ、血清由来の自己抗体を用いた免疫沈降およびその後の質量分析により、同程度の分子量の自己抗原としてヘキソキナーゼ 1 を同定した。ヘキソキナーゼは解糖系酵素の一つであり 4 つのアイソザイムをもつが、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応にてヒト網膜内にヘキソキナーゼ 1 の mRNA が発現していることを確認した。また免疫染色にてヒト網膜では外網状層、内顆粒層の外層、視細胞内節に高発現を認めた。DME 血清を一次抗体として免疫染色を行ったところ、10 例中 7 例で C57BL/6J マウスの網膜の外網状層にヘキソキナーゼ 1 と部分的に共局在していた。</p> <p>患者血清中の抗ヘキソキナーゼ 1 抗体の抗体価を ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)にて定量解析したところ、DME 患者群では非糖尿病患者群、DR を有さない糖尿病患者群、DME を有さない DR 患者群と比較し、血清中の抗体価は有意に高く（各々P=0.002, P=0.003, P=0.022）、DME 血清サンプル 83 例中 20 例（24.1%）はカットオフ値より高かった。糖尿病患者 209 例を対象とした多変量ロジスティック回帰分析では抗ヘキソキナーゼ 1 抗体の抗体価は DME の有無と有意な関連を認め(オッズ比 183.8[95%信頼区間 8.7-3889.9], P<0.001)、DME の独立した予測因子であった。</p> <p>これらの結果から、抗ヘキソキナーゼ 1 抗体は DME の診断における血清バイオマーカーとして有用である可能性が示唆された。</p>			

<p>（論文審査の結果の要旨）</p> <p>糖尿病黄斑浮腫は血液網膜柵の破綻と共に難治性の視力低下を来すが、神経網膜を障害するメカニズムは十分には理解されておらず、診断法の改善と治療法の確立が急務である。本研究では、糖尿病黄斑浮腫における自己免疫機序として、血清自己抗体に着目した橋渡し研究を行った。ウェスタンブロット法や免疫染色によるスクリーニングでは、糖尿病黄斑浮腫の患者血清中に抗網膜抗体が複数存在することが示された。免疫沈降と質量分析を用いて新規自己抗体として抗ヘキソキナーゼ 1 抗体を同定した。ヘキソキナーゼ 1 は糖尿病黄斑浮腫でしばしば病変を生じる外網状層と視細胞内節に高発現しており、その自己抗体と病態との関与が示唆された。ELISA 法による定量的解析では、約 24% の糖尿病黄斑浮腫において血清中の抗体ヘキソキナーゼ 1 抗体の抗体価が上昇していたが、黄斑浮腫を有しない糖尿病患者では抗体価が低かった。多変量ロジスティック回帰分析においては、本自己抗体が糖尿病黄斑浮腫の独立した関連因子であることが明らかとなった。この結果から、抗ヘキソキナーゼ 1 抗体が糖尿病黄斑浮腫の新たな診断バイオマーカーとして有用である事が示唆された。</p> <p>以上の研究は、糖尿病黄斑浮腫における新規自己抗体である抗ヘキソキナーゼ 1 抗体の臨床的意義の解明に貢献し、血清バイオマーカーによる糖尿病黄斑浮腫の新規診断方法の確立に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、令和 2 年 1 月 15 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>			
<p>要旨公開可能日： 年 月 日 以降</p>			